

[Claim(s)]

1. An oil phase containing inside chain monoglyceride of one or more (i)s;  
(ii) A hydrophobic preparation thing which this hydrophilic substance does not generally dissolve into said one or more glyceride including a hydrophilic substance solubilized or distributed in amphiphile [ of at least 1 ],, and one or more (iii)s glyceride.
2. Hydrophobic preparation thing given in the 1st clause of Claim which oil phase becomes from mixture of mono- of inside chain, and di-glyceride.
3. Hydrophobic preparation thing given in the 2nd clause of Claim in which glyceride of inside chain has chain length of eight to 10 carbon atom.
4. Hydrophobic preparation thing given in the 2nd clause of Claim or the 3rd clause in which oil phase contains compound of addition of oleic acid, glycerol monooleate, or gel sire further.
5. Hydrophobic preparation thing given in the 4th clause of Claim in which oil phase contains 40 to 90% of monoglyceride.
6. Hydrophobic preparation thing given in the 5th clause of Claim in which oil phase contains 60 to 70% of monoglyceride.
7. An oil phase is AKORIN. A hydrophobic preparation thing given in any 1 clause of the 1st clause of Claim to the 6th clause containing an mc em (Akoline MCM).
8. Amphiphile : hydrophobic preparation thing given in any 1 clause of the 1st clause of Claim to the 7th clause whose rate of hydrophilic substance is within the limits of 1:1-20:1 in weight ratio.
9. Amphiphile : hydrophobic preparation thing given in the 8th clause of Claim whose rate of hydrophilic substance is within the limits of 2:1-8:1 in weight ratio.
- Amphiphile 10. Phosphatidylcholine, phosphatidic acid, phosphatidylglycerol, Phosphatidylethanolamine, phosphatidylserine, or these RIZO derivatives, A hydrophobic preparation thing given in any 1 clause of the 1st clause of Claim to the 9th clause that is octyl glucoside or other glycolipids, tocopherol succinate and cholesterol hemi succinate, docusate sodium, or hydroxypropylcellulose.
11. A hydrophobic preparation thing given in any 1 clause of the 1st clause of Claim to the 9th clause whose amphiphile is bile salt.
- Amphiphile 12. Cholate, deoxycholate, a chenodeoxycholic acid salt, An ursodeoxycholic acid salt, taurocholate, a taurodeoxycholic acid salt, A Taoulo ursodeoxycholic acid salt, a Taoulo chenodeoxycholic acid salt, A hydrophobic preparation thing given in the 11th clause of Claim that is the bile salt containing a glycocholic acid salt, Glico deoxycholate, a Glico ursodeoxycholic acid salt, a Glico chenodeoxycholic acid salt, a lithocholic acid salt, a Taoulo lithocholic acid salt, or a Glico lithocholic acid salt.
13. A hydrophobic preparation thing given in any 1 clause of the 1st clause of Claim to the 12th clause whose hydrophilic substances are hydrophilic giant molecules.
14. A hydrophobic preparation thing with hydrophilic giant molecules given in protein, glycoprotein, oligo and/or a polyacid, for example, DNA, or RNA, and the 13th clause of Claim that calls and contains polysaccharides, such as these analogs and heparin, or these supermolecule aggregates.
15. A hydrophobic preparation thing given in the 13th clause of Claim or the 14th clause by which a small molecule is solubilized simultaneously with hydrophilic giant molecules.
16. A hydrophobic preparation thing given in the 15th clause of Claim whose small

molecules are polysaccharides, such as cyclodextrin, or vitamin B<sub>12</sub>.

17. A hydrophobic preparation thing given in any 1 clause of the 13th clause of Claim to the 16th clause whose polymer is protein.

Protein 18. An insulin, calcitonin, hemoglobin, trypsin inhibitor of a soybean, Aprotinin, GLP1, erythropoietin, somatotropin, a growth hormone, Blood factor, such as a growth hormone-releasing factor, galanin, urokinase, the factor VIII, factor IX, A hydrophobic preparation thing given in the 17th clause of Claim that is a tissue plasminogen activator, superoxide dismutase, catalase, peroxidase, interferon, somatostatin, hirudine, LHRH(s), these analogs, or a fragment.

19. A hydrophobic preparation thing given in any 1 clause of the 1st clause of Claim to the 12th clause whose hydrophilic substance is an organic smallness molecule, an inorganic smallness molecule, or colloidal matter.

20. A hydrophobic preparation thing given in the 19th clause of Claim whose hydrophilic substances are colloidal metal, such as glucose, carboxy fluorescein, an anticancer agent, a vitamin, a calcium chloride, sodium phosphate or gold colloid, palladium, platinum, or rhodium.

21. A hydrophobic preparation thing given in any 1 clause of the 1st clause of Claim to the 20th clause that contains further one or more [ which is chosen from an anti-oxidant, a metal chelate-ized agent, a buffer, and a dispersing agent ] further ingredients.

22. An emulsion preparation thing which contains the hydrophobic preparation things of a description in any 1 clause of the 1st clause of Claim to the 21st clause.

23. A drugs compound which contains the hydrophobic preparation things of a description in any 1 clause of the 1st clause of Claim to the 21st clause.

24. Use of hydrophobic preparation things given in any 1 clause of the 1st clause of Claim in preparation of drugs aiming at oral delivery of a hydrophilic substance to the 21st clause.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2000-515130

(P2000-515130A)

(43) 公表日 平成12年11月14日 (2000. 11. 14)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テマコード (参考)
A 6 1 K 47/14		A 6 1 K 47/14	
31/715	6 1 0	31/715	6 1 0
38/00		37/02	
38/16		37/26	
38/22		37/30	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 35 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平10-503931  
(86) (22) 出願日 平成9年7月2日 (1997. 7. 2)  
(85) 翻訳文提出日 平成10年12月8日 (1998. 12. 8)  
(86) 国際出願番号 PCT/GB 97/01775  
(87) 国際公開番号 WO 98/00169  
(87) 国際公開日 平成10年1月8日 (1998. 1. 8)  
(31) 優先権主張番号 9613858. 1  
(32) 優先日 平成8年7月2日 (1996. 7. 2)  
(33) 優先権主張国 イギリス (GB)

(71) 出願人 コーテックス (ユーケー) リミテッド  
イギリス国, ミドルセックス ティーダブル  
7 6 アールエル, イスルワース, ロワ  
ー スクエア, ザ オールド ブルー  
スクール  
(72) 発明者 ニュー, ロジャー, ランダル, チャールズ  
イギリス国, ロンドン エヌダブル3 6  
キュービー, ハンプステッド, ラングラン  
ド ガーデنز 1, ラインスター マン  
ションズ, フラット 10  
(74) 代理人 弁理士 八田 幹雄 (外3名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 中鎖モノグリセリドを含む疎水性調製物

(57) 【要約】

他のもののうち、薬剤デリバリーシステムとして有用である疎水性調製物は、(1) アコリンエムシーエム (商標) (Akoline MCM<sup>®</sup>) 等の、一以上の中鎖モノグリセリドを含む油相; (11) 好ましくはホスファチジルコリン等のリン脂質を含む、少なくとも一の両親媒性物質; および (111) 一以上のグリセリド中に可溶化されるまたは分散される、インスリン若しくはカルシトニンまたは他の高分子等のタンパク質であってもよい親水性物質からなるものである。(親水性物質は一般的にグリセリドに可溶性でないものである)。

## 【特許請求の範囲】

1. (i) 一以上の中鎖モノグリセリドを含む油相；  
(i i) 少なくとも一の両親媒性物質；および  
(i i i) 一以上のグリセリド中に可溶化されるまたは分散される親水性物質  
を含み、該親水性物質が一般的には前記一以上のグリセリド中に溶解しない疎水性調製物。
2. 油相が中鎖のモノー及びジグリセリドの混合物からなる、請求の範囲第1項に記載の疎水性調製物。
3. 中鎖のグリセリドが8～10炭素原子の鎖長を有する、請求の範囲第2項に記載の疎水性調製物。
4. 油相がさらにオレイン酸、グリセロールモノオレエートまたはゲルサイア一等の追加の化合物を含む、請求の範囲第2項または第3項に記載の疎水性調製物。
5. 油相が40～90%のモノグリセリドを含む、請求の範囲第4項に記載の疎水性調製物。
6. 油相が60～70%のモノグリセリドを含む、請求の範囲第5項に記載の疎水性調製物。
7. 油相がアコリン エムシーエム(Akoline MCM)を含む、請求の範囲第1項から第6項のいずれか一項に記載の疎水性調製物。
8. 両親媒性物質：親水性物質の割合が重量比で1：1～20：1の範囲内である、請求の範囲第1項から第7項のいずれか一項に記載の疎水性調製物。
9. 両親媒性物質：親水性物質の割合が重量比で2：1～8：1の範囲内である、請求の範囲第8項に記載の疎水性調製物。
10. 両親媒性物質がホスファチジルコリン、ホスファチジン酸、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン若しくはこれらのリゾ誘導体、オクチルグルコシド若しくは他の糖脂質、トコフェロールスクシネート及びコレステロールヘミスクシネート、ドキュセートナトリウ

ムまたはヒドロキシプロピルセルロースである、請求の範囲第1項から第9項のいずれか一項に記載の疎水性調製物。

11. 両親媒性物質が胆汁酸塩である、請求の範囲第1項から第9項のいずれか一項に記載の疎水性調製物。

12. 両親媒性物質がコール酸塩、デオキシコール酸塩、ケノデオキシコール酸塩、ウルソデオキシコール酸塩、タウロコール酸塩、タウロデオキシコール酸塩、タウロウルソデオキシコール酸塩、タウロケノデオキシコール酸塩、グリココール酸塩、グリコデオキシコール酸塩、グリコウルソデオキシコール酸塩、グリコケノデオキシコール酸塩、リトコール酸塩、タウロリトコール酸塩またはグリコリトコール酸塩を含む胆汁酸塩である、請求の範囲第11項に記載の疎水性調製物。

13. 親水性物質が親水性高分子である、請求の範囲第1項から第12項のいずれか一項に記載の疎水性調製物。

14. 親水性高分子がタンパク質、糖タンパク質、オリゴおよび／またはポリ酸、例えば、DNA若しくはRNA、およびこれらの類似体、ヘパリン等の多糖、またはこれらの超分子集合体を含む、請求の範囲第13項に記載の疎水性調製物。

15. 小分子が親水性高分子と同時に可溶化される、請求の範囲第13項または第14項に記載の疎水性調製物。

16. 小分子がシクロデキストリンなどの多糖またはビタミンB<sub>12</sub>である、請求の範囲第15項に記載の疎水性調製物。

17. 高分子がタンパク質である、請求の範囲第13項から第16項のいずれか一項に記載の疎水性調製物。

18. タンパク質がインスリン、カルシトニン、ヘモグロビン、大豆のトリプシンインヒビター、アプロチニン、GLP1、エリトロポエチン、ソマトトロピン、成長ホルモン、成長ホルモン放出因子、ガラニン、ウロキナーゼ、因子VII Iや因子IX等の血液因子、組織プラスミノゲン活性化因子、スーパーオキシドジスムターゼ、カタラーゼ、ペルオキシダーゼ、インターフェロン、ソマトス

タチン、ヒルジン、LHRHまたはこれらの類似体若しくは断片である、請求の範囲第17項に記載の疎水性調製物。

19. 親水性物質が有機小分子、無機小分子またはコロイド状物質である、請求の範囲第1項から第12項のいずれか一項に記載の疎水性調製物。

20. 親水性物質がグルコース、カルボキシフルオレシン、抗癌剤、ビタミン、塩化カルシウム、リン酸ナトリウムまたは金コロイド、パラジウム、白金若しくはロジウムなどのコロイド金属である、請求の範囲第19項に記載の疎水性調製物。

21. 抗酸化剤、金属キレート化剤、緩衝剤及び分散剤から選ばれる一以上のさらなる成分をさらに含む、請求の範囲第1項から第20項のいずれか一項に記載の疎水性調製物。

22. 請求の範囲第1項から第21項のいずれか一項に記載の疎水性調製物を含むエマルジョン調製物。

23. 請求の範囲第1項から第21項のいずれか一項に記載の疎水性調製物を含む薬剤配合物。

24. 親水性物質の経口デリバリーを目的とする薬剤の調製における請求の範囲第1項から第21項のいずれか一項に記載の疎水性調製物の使

用。

**【発明の詳細な説明】****中鎖モノグリセリドを含む疎水性調製物**

本発明は、物質が一般的には可溶性でない疎水性溶剤におけるその物質の調製物およびこれらの調製物を得る方法に関するものである。特に、本発明は、中鎖モノグリセリド (MCM) 及びジグリセリドの混合物における親水性物質の調製物に関するものである。

本発明は、特に、一般的には油または他の疎水性溶剤に溶解しない親水性高分子に適用する。

製薬科学において、食品技術または化粧品工業において等、数多く用途について、タンパク質及び同様の高分子を用いた研究は、それらの親水性及び高い極性により脂質相と相互作用するまたは脂質相中に取り込まれることができる範囲が制限されるため、問題を有する。多くの自然界のシステムは、内部のコンパートメントへの親水性分子の接近を阻害するのに脂質のバリアー（例えば、皮膚、細胞膜）を利用している；脂質媒体中にタンパク質を分散することが可能になると、生物学的システム中にこれらの高分子を導入する新たなルートが開け、これにより、タンパク質を含む脂質媒体が、バリアーの疎水性成分によって排除されずにこれらの成分と組み込む(integrate)ことできる。

我々は、すでに、WO-A-9513795号、WO-A-9617593号及びWO-A-9617594号において、親水性物質を一般的には溶解しない疎水性相中に可溶化する疎水性調製物の調製方法を開示した。特に、これらの方法は、タンパク質を可溶化するのに適している。

上記調製方法によりタンパク質等の高分子を可溶化する簡単かつ有効

な方法が得られたものの、我々は、この調製物の高分子のデリバリー特性が特定の油相および、必要であれば、特定の両親媒性物質(amphiphile)を使用することによって改善されうることを発見した。これは、本明細書中に開示される調製物は治療用高分子の吸収を促進するのみでなく良好な投与の再現性があるため、可溶化させる高分子がタンパク質、例えば、製薬上活性のあるタンパク質である際に特に好ましい。

したがって、第一の概念によると、本発明は：

- (i) 一以上の中鎖モノグリセリドを含む油相；および
- (i i) 少なくとも一の両親媒性物質(amphiphile)；
- (i i i) グリセリドの混合物中に可溶化されるまたは分散される親水性物質を含み、前記親水性物質が一般的には前記一以上のモノグリセリド中に溶解しない疎水性調製物を提供するものである：

本明細書において、「疎水性調製物」は、親水性物質が水相中に存在しない調製物である。このような疎水性調製物は、タンパク質などの親水性高分子を経口でデリバリーするのに特に好適に使用される。

従来技術は、確かに、小腸における透過促進剤として中鎖モノグリセリドを使用する例を数多く含んでいる (セキネ(Sekine)ら、ジェー ファーマコビオディン(J. Pharmacobiodyn.)、7 : 8 5 6 ~ 6 3 (1984年) ; ヒガキ(Higaki)ら、ジェー ファーマコビオディン(J. Pharmacobiodyn.)、9 : 5 3 2 ~ 9 (1986年) ; ウノウスキー(Unowsky)ら、ケモセラピー(Cheмоtherapy)、3 4 : 2 7 2 ~ 6 (1988年) ; ワタナベ(Watanabe)ら、ジェー ファーム サイ(J. Pharm. Sci.)、7 7 : 8 4 7 ~ 9 (1988年) ; イェー(Yeh)ら、ファーム レス(Pharm. Res.)、1 1 : 1 1 4 8 ~ 5 4 (1994年) ; コンスティニデス(Constinides)ら、ファーム レス(Pharm. Res.)、1 1 : 1 3 8 5 ~ 9 0

(1994年) )。しかしながら、いずれの場合においても、開示される配合物は活性のある成分/薬剤が水相中に可溶化されるものである。事実、とりわけ、WO-A-9513795号に開示される方法までは、親水性物質を生物学的活性を保持しつつ真にかつ容易に疎水性相中に可溶化した調製物は利用されていなかった。

本発明による調製物は、通常、多量の水相を有さず、遊離水分子を持たない。

好ましい実施態様によると、油相 i) は、中鎖モノー及びジグリセリドの混合物からなるであろう。好ましくは、本発明で使用される中鎖グリセリドは、8 ~ 10 炭素原子の鎖長を有し、例えば、直鎖の飽和脂肪酸を含んでいてもよい。他の実施態様によると、油相 i) は、一以上の中鎖モノグリセリドおよびオレイ



ン酸、グリセロールモノオレエート(glycerol monooleate)またはケルサイアー(gelucire)等の少なくとも一の他の成分を含んでいてもよい。双方の上記実施態様で、必須成分は中鎖モノグリセリドであろう。中鎖モノグリセリドを単独であるいはグリセリド等の混合物として使用するのにかかわらず、使用される油成分は、存在するモノグリセリドの量が、油成分が45℃以下の温度で液体を保つようにさせつつ、最大であるようなものでなければならない。特に、モノグリセリドは、存在する油全量の40～90%、好ましくは60～70%を占めてもよい。適当なグリセリドの混合物の一例としては、カールシャムズ スウェーデン アクチボラケット(Karlshamns Sweden AB)、エス/374 82 カールシャン、スウェーデン(S/374 82 Karlshamn, Sweden)から市販される、中鎖モノー及びジグリセリド双方を含むアコリン エムシーエム(商標)(Akoline MCM<sup>TM</sup>)がある。

好ましくは、両親媒性物質：高分子の割合は、重量比で1：1～20：1の範囲、より好ましくは重量比で2：1～8：1の範囲である。

適当な両親媒性物質の例としては、ホスファチジルコリン、ホスファチジン酸、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルエタノールアミン及びこれらのリゾ誘導体などのリン脂質、オクチルグルコシド及び他の糖脂質、トコフェロールスタシネート(tocopherol succinate)及びコレステロールヘミスクシネート(cholesterol hemisuccinate)が挙げられる。他の適当な両親媒性物質の例としては、ホスファチジルセリン、ドキュセートナトリウム(sodium docusate)またはヒドロキシプロピルセルロースが挙げられる。一以上の両親媒性物質が使用されてもよい。

一つの好ましい実施態様によると、使用される両親媒性物質は胆汁酸塩(bile salt)である。本発明において、塩またはその共役酸が存在するかどうかは周辺環境のpHに依存するため、胆汁酸塩及び胆汁酸ということばは交互に使用されることに留意すべきである。

胆汁酸塩は天然に生じる界面活性剤である。これらは、すべての哺乳動物及び高等植物に発見されるコラン酸を基礎とする共通の「骨格」構造を有する化合物

群である。胆汁酸塩は、モノー、ジーまたはトリーヒドロキシル化されてもよい；これらは、常に、3 $\alpha$ -ヒドロキシル基を含むが、C<sub>6</sub>、C<sub>7</sub>またはC<sub>12</sub>で最も一般的に見付かる、他のヒドロキシル基が分子の平面の上( $\beta$ )または下( $\alpha$ )のいずれかに位置してもよい。

一次側鎖(primary side chain)の一部としてカルボキシル基を有する両親媒性多価ステロールは、胆汁酸塩として記載される化合物の分類に含まれる。哺乳動物におけるこれらの最も一般的な例はコレステロール代謝から生じるものがあり、小腸を通して、胆汁中に、および誘導化された(derivatised)形態で見付かっている。

本明細書中では、このことばは、同様の生物学的効果を発揮する天然に存在する胆汁酸塩の合成類似体に、またはフシジン酸及びその誘導体

等の微生物由来の分子にも適用する。

一胆汁酸塩(または複数の胆汁酸塩)は、非共役または共役のいずれでもよい。「非共役」ということばは、一次側鎖が末端に位置し非置換である単一のカルボキシル基を有する胆汁酸塩を意味する。非共役胆汁酸塩の例としては、コール酸塩、ウルソデオキシコール酸塩、ケノデオキシコール酸塩及びデオキシコール酸塩が挙げられる。共役胆汁酸塩は一次側鎖が置換されるカルボキシル基を有するものである。置換体は窒素原子を介して胆汁酸塩のカルボキシル基に結合するアミノ酸誘導体であることが多いであろう。共役胆汁酸塩の例としては、タウロコール酸塩、グリココール酸塩、タウロデオキシコール酸塩及びグリコデオキシコール酸塩が挙げられる。

したがって、本発明において、適当な胆汁酸塩の例としては、コール酸塩、デオキシコール酸塩、ケノデオキシコール酸塩及びウルソデオキシコール酸塩が挙げられ、ウルソデオキシコール酸塩が特に好ましい。

使用される他の胆汁酸塩としては、タウロコール酸塩、タウロデオキシコール酸塩、タウロウルソコール酸塩、タウロケノデオキシコール酸塩、グリコール酸塩、グリコデオキシコール酸塩、グリコウルソデオキシコール酸塩、グリコケノデオキシコール酸塩、リトコール酸塩、タウロリトコール酸塩及びグリコリトコー

ル酸塩が挙げられる。

本発明において、「親水性物質(hydrophilic species)」ということばは、通常、水性溶剤には可溶性であるが疎水性溶剤には不溶性である物質を意味するものである。本発明において使用される親水性物質の範囲は多様であるが、親水性高分子が使用される物質の一例を表わす。

広範な高分子が本発明に好適に使用される。疎水性高分子を油性溶液に可溶化させることは一般的にほとんど難しくないので、通常、高分子化合物は親水性であるまたは少なくとも親水性領域を有するものである。

う。適当な高分子の例としては、タンパク質及び糖タンパク質、オリゴ及びポリ核酸(oligo-or polynucleic acid)、例えば、プラスミドDNA等のDNA、及びRNA、ならびにDNAおよび／またはRNA類似体、ヘパリン（特に低分子量のヘパリン）等の多糖及び、場合によっては、全細胞またはオルガネラを含むこれらのいずれかの超分子集合体(supermolecular assembly)が挙げられる。高分子、特にシクロデキストリン等の多糖と共にビタミン等の小分子を同時に可溶化(co-solubilise)することも簡便である。ビタミンB<sub>12</sub>等の小分子を高分子と化学的に共役させて、すなわち、本組成物中に含ませてもよい。

本発明の方法によって良好に可溶化される特定のタンパク質の例としては、インスリン、カルシトニン、ヘモグロビン、シトクロムC、西洋ワサビのペルオキシダーゼ、アプロチニン、マッシュルームのチロシナーゼ、エリトロポエチン、ソマトトロピン、成長ホルモン、成長ホルモン放出因子、ガラニン(galanin)、ウロキナーゼ、因子IX、組織プラスミノーゲン活性化因子、スーパーオキシドジスムターゼ、カタラーゼ、ペルオキシダーゼ、フェリチン、インターフェロン、因子VII及びこれらの断片（上記タンパク質はすべて適当な源由来でよい）が挙げられる。他のタンパク質としては、大豆のトリプシンインヒビター、GLP1、他の血液凝固因子、ソマトスタチン、ヒルジン、及びLHRHならびにこれらすべての類似体及び断片が挙げられる。

これらまたは他のタンパク質の一以上の混合物を本発明によって可溶化してもよい。

約1,000,000の分子量を有するデキストランが本発明のプロセスによって容易に可溶化できるので、高分子化合物の分子量の上限はないと考えられる。

高分子に加えて、本発明の方法はより小さな有機分子を高分子と共に

あるいは高分子の代わりに可溶化するのにも使用される。有機小分子の例としては、グルコース、カルボキシフルオレシン(carboxyfluorescein)及び抗癌剤等の数多くの薬剤が挙げられるが、本方法は他の有機小分子、例えば、他のビタミンまたは製薬上若しくは生物学的に活性を有する薬剤にも同様にして適用できることはいうまでもない。さらに、塩化カルシウムやリン酸ナトリウム等の化合物もまた本方法を用いて可溶化できる。本発明は、非水溶液の使用によって分子が体内に入るルートを変化させる、例えば、生物学的利用能を向上させることが可能であるので、製薬上及び生物学的に活性を有する薬剤に対して特に好ましい。

本発明の高分子含有調製物中に含ませてもよい有機小分子としては、ポリグリセロール、PEG及びグリセロール（特に、インスリンまたは恐らく、他のタンパク質の場合）などの安定化剤、クエン酸、EDTA及びEGTAなどのキレート化剤、ならびにアスコルビン酸塩などの抗酸化剤が挙げられる。

本発明の疎水性組成物中に含ませてもよい他の型の物質としては、無機小分子等の無機材料またはコロイド状物質、例えば、コロイド金属がある。本発明の方法によって、金コロイド、パラジウム、白金またはロジウムなどのコロイド金属の性質の一部を粒子が一般的な環境下では凝集するような疎水性溶剤中でさえ保持することができる。これは、有機溶剤中で行われる反応の触媒作用に特に有用である。

本発明の疎水性調製物はまた、必要であれば、さらなる成分を含んでもよい。これらの例としては、抗酸化剤、金属キレート化剤、緩衝剤及び分散剤が挙げられる。適当な分散剤の例としては、ツィーン(Tween)、スパン(Span)及びブリジ(Brij)クラスの物質などの界面活性剤、さらにはポリオキシエチレン化ヒマシ油(polyoxyethylated castor oil)誘導体、及び他のPOE含有界面活性剤が挙げられる。

本発明の疎水性調製物は、以下からなる方法を用いて調製されうる：

(i) 液状媒体中で両親媒性物質と親水性物質との間で化学的な相互作用が存在しないように、液状媒体中で親水性物質を両親媒性物質と会合させる (associate)；

(i i) 液状媒体を除去して、親水性のヘッド基 (head group) が親水性物質方向に配向する (orientated) 両親媒性分子のアレイを残す；

および

(i i i) 親水性物質／両親媒性物質のアレイの周辺に中鎖のモノー及びジグリセリドの混合物を提供する。

このような方法は、WO-A-9513795号に開示される。特に、本発明の疎水性調製物は、

(i) 疎水性相の存在下で親水性物質を両親媒性物質と会合させる (associate)；および

(i i) 存在する親水性溶剤を除去する

ことからなり、この際、上記親水性溶剤の除去段階は疎水性相を固体状態に維持する条件下で行われる、PCT特許出願番号PCT/GB97/00749号に開示される方法によって調製できる：

好ましくは、この方法を使用する際には、親水性物質及び両親媒性物質を、まず、親水性溶剤、例えば、水性溶剤、多くの場合水単独中に溶解した後、さらにこの溶液をグリセリド混合物と会合させる。上記親水性溶剤の除去段階はグリセリド混合物がすべての水が除去されるまで固体状態に確かに維持されるような温度で行われるような、凍結乾燥によって簡便に達成される。場合によっては、油が、すべての親水性溶剤がすでに除去された場合固体ブロックの一部で（一般的には表面及び端で）温度が局所的に増加した結果、凍結乾燥中に液化するかもしれない。本明細書では、親水性溶剤の昇華から誘発される冷却効果はもはや存在

せず、このような領域では、油は溶融するであろう。油が現れるやいなやすぐに固体ブロックの残りから排出されれば、このような状況によって満足のいく末端製品が製造できるであろう（そうでなければ、蓄積した油が親水性溶剤のさらな

る除去を防止する層を形成するであろう)。

または、凍結乾燥中の温度を、油が親水性溶剤が吹き飛ばされた後でさえ固体を保つように維持してもよい。この場合には、凍結乾燥後、調製物の温度を上昇させて単相調製物を製造する。これは、凍結乾燥された調製物を室温まで上げて、さらにグリセリド混合物を液体状態に戻すことによって、簡単に達成できる。他の親水性溶剤の除去方法、例えば、噴霧乾燥を使用してもよい。

本発明の疎水性調製物は、非常に可変性であり、多くの用がある。本発明の疎水性調製物は、単独で使用されてもあるいは水相と組み合わせて本発明の第二の概念を形成するエマルジョンまたは同様の2相組成物を形成してもよい。

本発明の上記概念によると、親水性相及び疎水性相からなり、上記疎水性相が上記方法によって得られる本発明の疎水性調製物を含む2相組成物を提供するものである。

通常、この型の組成物では、疎水性相は親水性相中に分散されるであろう。

本明細書中で述べられるように、本発明の疎水性調製物は、親水性物質が、例えば、経口投与後に血流中に容易に吸収される点で特に好ましい。したがって、本発明の疎水性調製物は、例えば、タンパク質の経口デリバリーに特に適する。しかしながら、当業者は、本発明の調製物が他の投与経路、例えば、局所または経膈による経路でも好ましいと考えるであろう。したがって、第三の概念によると、本発明は、本発明の疎水性調製物を含む薬剤配合物を提供するものである。本発明の概念に含

まれる薬剤配合物としては、カプセル、錠剤及び他の提示(presentation)が挙げられる。加えて、第四の概念によると、本発明は、親水性物質、例えば、タンパク質などの親水性高分子の経口デリバリーを目的とする薬剤の調製における本発明の疎水性調製物の使用を提供するものである。本発明はまた、刺激または抑制のいずれかによって、免疫反応を修飾するのにも使用できる。

本発明の各概念の好ましい態様は、必要であれば変更を加えて(mutatis mutandis)、各他の概念に同様に適用できる。

本発明を下記実施例を参照しながら説明するが、下記実施例は本発明を何ら制

限するものではないと解される。

### 実施例1：カルシトニン／PC複合体(complex)を含む配合物の調製

#### (i) リン脂質分散液の調製

1. ガラス製の共栓を有する煮沸管(boiling tube)中に1.6gの大豆のホスファチジルコリンを秤量し、蒸留水を加えて、最終重量を8gにした。窒素を流し(flush)、よく栓をし、パラフィンで密閉し、さらにすべての固体が分散するまでオービタルシェーカー(orbital shaker)で緩やかに混合した。
2. ガラス製の丸底ソニケーター容器に移した。
3. ソニケーター容器を、直径1インチのプローブを備えたソニックス 4マテリアルズ ビブラ セル ブイシー エックス 600 ソニケーター(Sonics 4 Materials Vibra Cell VC X 600 Sonicator)中にクランプし(clamp)、基材が液体のメニスカスより十分下になるまでプローブを浸漬した。粘着フィルムのカットストリップを用いて、プローブと管の頂上部との間にスリーブを形成し、液体より上の空間を窒素でパージした。ソニケーター容器を氷スラリー浴中に漬けた。
4. 液状懸濁液を、乳白色の分散液が形成されるまで(一般的には、

全超音波処理時間が4分)、50%の振幅(amplitude)で、4秒間の冷却間隔をはさんで1秒間のバーストで超音波処理した。

5. この分散液をプラスチック製のコニカル遠心器に移し、1200gで15分間遠心した。上清を存在するペレットから分離した。
6. 蒸留水で2倍希釈して、最終濃度を100mg/mlのリン脂質にした。

#### (ii) タンパク質溶液の調製

7. 20mgのアプロチニンを2ml容のガラス製のスクリュウキャップ付きのバイアル瓶中に秤量し、1mlの蒸留水を添加した。キャップをしっかりとめ、すべての固体が溶けるまで緩やかに混合した。
8. 16mgのサケのカルシトニンを1ml容のガラス製のスクリュウキャップ付きのバイアル瓶中に秤量し、0.8mlの蒸留水を添加した。キャップをしっかりとめ、すべての固体が溶けるまで緩やかに混合した。

9. 50 mgのアスコルビン酸及び5 mgのクエン酸を ml容のガラス製のスクリュウキャップ付きのバイアル瓶中に秤量し、1 mlの蒸留水を添加した。キャップをしっかりとめ、すべての固体が溶解するまで緩やかに混合した。

10. 3本のガラス製のスクリュウキャップ付きの10 ml容のバイアル瓶それぞれに、段階6のリン脂質分散液2 ml (200 mg 固体)、段階7のアプロチニン溶液250  $\mu$ l (5 mg 固体)、段階8のカルシトニン溶液250  $\mu$ l (5 mg 固体)、段階9のアスコルビン酸/クエン酸溶液200  $\mu$ l (それぞれ、10 mg 及び1 mg 固体)を調剤した。

各バイアル瓶の内容物を緩やかに混合した。

(iii) 水相の凍結乾燥

11. 各バイアル瓶の内容物をすばやく液体窒素中で凍結した。

12.  $-40^{\circ}\text{C}$ 未満のコンデンサー温度及び0.1 ミルバール(mBar)未満の真空度で一晩凍結乾燥した。

(iv) 油相の調製

13. 0.8 gのポリソルベート80 (POLYSORBATE 80)及び7.2 gのアコリン エムシーエム(AKOLINE MCM)をB8ガラス製のスクリュウキャップ付きのバイアル瓶中に秤量した。バイアル瓶に窒素を流し(flush)、キャップをよくしめ、パラフィンで密閉し、均質な溶液が得られるまでローラーミキサーで緩やかに混合した。

(v) 油相への可溶化

14. サンプルを凍結乾燥器で十分乾燥した後、各バイアル瓶に1.779 gの段階14の油相を添加した。各バイアル瓶に窒素を流し、キャップをよくしめ、パラフィンで密閉した。

15. 室温で2時間ローラーミキサーで混合することによって固体を溶解させた後、透明な溶液が形成されるまで $37^{\circ}\text{C}$ で振とうした。

16. 使用する必要があるまで $+4^{\circ}\text{C}$ で貯蔵した。

(vi) インビボ投与

17. 油を溶融し透明な溶液を形成するために各バイアル瓶を水浴中で $37^{\circ}\text{C}$



まで加温した。

18. 各バイアル瓶に、4 ml の加温PBSを添加し、30秒間ボルテックスし、上記したようにして1.2 ml を1匹のブタに頸静脈内(i. j.)投与した。

実施例2：インスリン／ケノデオキシコール酸塩複合体(complex)を含む配合物の調製

(i) ケノデオキシコール酸塩溶液の調製

1. ガラス製のコニカルフラスコに6.0 g のケノデオキシコール酸ナトリウムを秤量し、蒸留水を加えて、最終重量を60 g にした。窒素

を流し、よく栓をし、パラフィンで密閉し、さらにすべての固体が溶解するまでオービタルシェーカー(orbital shaker)で緩やかに混合した。

(ii) タンパク質溶液の調製

2. 120 mg のアプロチニンを2 ml 容のガラス製のスクリュウキャップ付きのバイアル瓶中に秤量し、6.0 ml の蒸留水を添加した。キャップをしっかりとしめ、すべての固体が溶けるまで緩やかに混合した。

3. 3個のそれぞれのインスリンのロット106.5 mg を(A) 100 ml 容のコニカルフラスコ、(B) 25 ml 容のコニカルフラスコおよび(C) 10 ml 容のガラス製のスクリュウキャップ付きのバイアル瓶中に秤量した。フラスコ(A)に、段階3.1.1のケノデオキシコール酸塩溶液30 ml (3 g 固体)を添加した。フラスコ(B)には、ケノデオキシコール酸塩溶液15 ml (1.5 g 固体)を添加し、フラスコ(C)には、7.5 ml (0.75 g 固体)を添加した。フラスコ及びバイアル瓶をパラフィンでフタをし、すべての固体が溶解するまで37℃でオービタルシェーカー(orbital shaker)で緩やかに混合した。

4. 54 mg のクエン酸を2 ml 容のガラス製のスクリュウキャップ付きのバイアル瓶中に秤量し、6.0 ml の蒸留水を添加した。キャップをしっかりとしめ、すべての固体が溶けるまで緩やかに混合した。

5. 12本のガラス製のスクリュウキャップ付きの7 ml 容のバイアル瓶それぞれに、段階3のインスリン／ケノデオキシコール酸塩溶液(A) 2 ml、段階

2のアプロチニン溶液100 $\mu$ l、及び段階4のクエン酸溶液100 $\mu$ lを調剤した。各バイアル瓶の内容物を緩やかに混合した。

6. 12本のガラス製のスクリーキャップ付きの7ml容のバイアル瓶それぞれに、段階3のインスリン/ケノデオキシコール酸塩溶液(B)1ml、段階2のアプロチニン溶液100 $\mu$ l、及び段階4のク

エン酸溶液100 $\mu$ lを調剤した。各バイアル瓶の内容物を緩やかに混合した。

7. 12本のガラス製のスクリーキャップ付きの7ml容のバイアル瓶それぞれに、段階3のインスリン/ケノデオキシコール酸塩溶液(C)0.5ml、段階2のアプロチニン溶液100 $\mu$ l、及び段階4のクエン酸溶液100 $\mu$ lを調剤した。各バイアル瓶の内容物を緩やかに混合した。

(iii) 水相の凍結乾燥

8. 各バイアル瓶の内容物をすばやく液体窒素中で凍結し、-40℃未満のコンデンサー温度及び0.1ミルバール未満の真空度で一晩凍結乾燥した。

(iv) 油相の調製

9. 6.0gのポリソルベート80(POLYSORBATE 80)及び54gのアコリンエムシーエム(AKOLINE MCM)を100ml容のガラス瓶中に秤量した。バイアル瓶に窒素を流し、キャップをしっかりとめ、パラフィンで密閉し、均質な溶液が得られるまでローラーミキサーで緩やかに混合した。

(v) オレイン酸への可溶化

10. サンプルを凍結乾燥器で十分乾燥した後、調製物(A)の各バイアル瓶に0.79gの段階10の油相を添加した。各バイアル瓶に窒素を流し、キャップをしっかりとめ、パラフィンで密閉した。

11. サンプルを凍結乾燥器で十分乾燥した後、調製物(B)の各バイアル瓶に0.89gの段階10の油相を添加した。各バイアル瓶に窒素を流し、キャップをしっかりとめ、パラフィンで密閉した。

12. サンプルを凍結乾燥器で十分乾燥した後、調製物(C)の各バイアル瓶に0.94gの段階10の油相を添加した。各バイアル瓶に窒

素を流し、キャップをしっかりとめ、パラフィンで密閉した。

13. 室温で2時間ローラーミキサーで混合することによって固体を溶解させた後、透明な溶液が形成されるまで37℃で振とうし、使用する必要があるまで+4℃で貯蔵した。

(vi) インビボ投与

14. 油を溶融し透明な溶液を形成するために各バイアル瓶を水浴中で37℃まで加温した。

15. 各バイアル瓶に、2mlの加温PBSを添加し、30秒間ボルテックスし、上記したようにして1本の全バイアル瓶の内容物を1匹のブタに頸静脈内(i.j.)投与した。

### 実施例3：インスリン／PC複合体を含む配合物の調製

(i) リン脂質分散液の調製

1. ガラス製の共栓を有する煮沸管中に2gの大豆のホスファチジルコリンを秤量し、蒸留水を加えて、最終重量を8gにした。窒素を流し、よく栓をし、パラフィンで密閉し、さらにすべての固体が分散するまでオービタルシェーカーで緩やかに混合した。

2. ガラス製の丸底ソニケーター容器に移した。

3. ソニケーター容器を、直径1インチのプローブを備えたソニックス 4 マテリアルズ ビブラ セル ブイシー エックス 600 ソニケーター(Sonics 4 Materials Vibra Cell VC X 600 Sonicator)中にクランプし(clamp)、基材が液体のメニスカスより1cm下になるまでプローブを浸漬した。粘着フィルムストリップを用いて、プローブと管の頂上部との間にスリーブを形成し、液体の上の空間を窒素でパージした。ソニケーター容器を氷スラリー浴中に漬けた。

4. 液状懸濁液を、乳白色の分散液が形成されるまで(一般的には、全超音波処理時間が4分)、50%の振幅で、4秒間の冷却間隔をはさ

んで1秒間のバーストで超音波処理した。

5. この分散液をプラスチック製のコニカル遠心器に移し、1200gで15

分間遠心した。上清を存在するペレットから分離した。

(i i) タンパク質溶液の調製

6. 30 mgのアプロチニンを2 ml容のガラス製のスクリュキャップ付きのバイアル瓶中に秤量し、1.5 mlの蒸留水を添加した。キャップをしっかりとめ、すべての固体が溶けるまで緩やかに混合した。

7. 110 mgのインスリンを25 ml容のコニカルフラスコ中に秤量し、予め150  $\mu$ lの氷酢酸が添加された15 mlの蒸留水すべてを添加した。フラスコをパラフィンでフタをし、すべての固体が溶解するまで37℃でオービタルシェーカーで緩やかに混合した。

8. 10 mgのクエン酸ナトリウムを2 ml容のガラス製のスクリュキャップ付きのバイアル瓶中に秤量し、1.5 mlの蒸留水を添加した。キャップをしっかりとめ、これをすべての固体が溶けるまで緩やかに混合した。

9. 12本のガラス製のスクリュキャップ付きの7 ml容のバイアル瓶それぞれに、段階7のインスリン溶液1 ml (7.33 mg 固体、200 iu)、段階8のクエン酸ナトリウム100  $\mu$ l (0.67 mg 固体)、段階6のアプロチニン溶液100  $\mu$ l (2 mg 固体) 及び段階5のリン脂質分散液400  $\mu$ l (100 mg 固体) を調剤した。各バイアル瓶の内容物を緩やかに混合した。

(i i i) 油相の調製

10. 1.5 gのポリソルベート80及び13.5 gのアコリン エムシーエムを20 ml容のガラス瓶中に秤量した。バイアル瓶に窒素を流し、キャップをしっかりとめ、パラフィンで密閉し、均質な溶液が得られるまでローラーミキサーで緩やかに混合した。

(i v) 水相の凍結乾燥

11. 段階9の各バイアル瓶に、大容積流量計 (large volume positive displacement dispenser) を用いて段階10のアコリン/ポリソルベート80混合液1 mlを添加した。

12. 各バイアル瓶をすばやく10秒間ホルテックスした後、即座の液体窒素中で凍結した。

13. -40℃未満のコンデンサー温度及び0.1ミルバール未満の真空度で二晩凍結乾燥した。

(v) 油中溶液(solution in oil)の調製

14. 各バイアル瓶を凍結乾燥器から取り出し、窒素を流し、ふたをしっかりと締め、パラフィンで密閉した。透明な溶液が得られるまで37℃で揺るやかに振とうしながらインキュベートし、使用する必要があるまで+4℃で貯蔵した。

(vi) インビボ投与

15. 油を溶融し透明な溶液を形成するために各バイアル瓶を水浴中で37℃まで加温した。

16. 各バイアル瓶に、2mlの加温PBSを添加し、30秒間ボルテックスし、上記したようにして全バイアル瓶の内容物を1匹のブタに頸静脈内(i. j.)投与した。

#### 実施例4：インスリン／ウルソデオキシコール酸塩複合体を含む配合物の調製

(i) ウルソデオキシコール酸塩溶液の調製

1. ガラス製のコニカルフラスコに525mgのウルソデオキシコール酸ナトリウムを秤量し、蒸留水を加えて、最終重量を15gにした。窒素を流して、よく栓をし、パラフィンで密閉し、さらにすべての固体が溶解するまでオービタルシェーカーで緩やかに混合した。

(ii) タンパク質溶液の調製

2. 30mgのアプロチニンを2ml容のガラス製のスクリーキャップ付きのバイアル瓶中に秤量し、1.5mlの蒸留水を添加した。キャップをしっかりと締め、すべての固体が溶けるまで緩やかに混合した。

3. 110mgのインスリンを25ml容のコニカルフラスコ中に秤量し、段階1のウルソデオキシコール酸塩溶液15ml(525mg固体)をすべて添加した。フラスコをパラフィンでフタをし、すべての固体が溶けるまで37℃でオービタルシェーカーで緩やかに混合した。

4. 13.5mgのクエン酸ナトリウムを2ml容のガラス製のスクリーキャップ付きのバイアル瓶中に秤量し、1.5mlの蒸留水を添加した。キャップ

をしっかりとめ、すべての固体が溶けるまで緩やかに混合した。

5. 12本のガラス製のスクリュキャップ付きの7ml容のバイアル瓶それぞれに、段階3のインスリン／ウルソデオキシコール酸塩溶液1ml (7.3mgインスリン／35mg胆汁酸塩)、段階4のクエン酸ナトリウム100 $\mu$ l (0.9mg固体)、及び段階2のアプロチニン溶液100 $\mu$ l (2mg固体)を調剤した。各バイアル瓶の内容物を緩やかに混合した。

(iii) 油相の調製

6. 1.5gのポリソルベート80及び13.5gのアコリン エムシーエムを20ml容のガラス瓶中に秤量する。バイアル瓶に窒素を流し、キャップをしっかりとめ、パラフィンで密閉し、均質な溶液が得られるまでローラーミキサーで緩やかに混合した。

(iv) 水相の凍結乾燥

7. 段階5の各バイアル瓶に、大容積流量計(large volume positive displacement dispenser)を用いて段階6のアコリン／ポリソルベート

80混合液1mlを添加した。

8. 各バイアル瓶をすばやく10秒間ボルテックスした後、即座に液体窒素中で凍結した。

9. -40℃未満のコンデンサー温度及び0.1ミルバール未満の真空度で二晩凍結乾燥した。

(v) 油中溶液(solution in oil)の調製

10. 各バイアル瓶を凍結乾燥器から取り出し、窒素を流し、ふたをしっかりとめ、パラフィンで密閉した。透明な溶液が得られるまで37℃で10分間インキュベートした。

11. 使用する必要があるまで+4℃で貯蔵した。

(vi) インビボ投与

12. 油を溶融し透明な溶液を形成するために各バイアル瓶を水浴中で37℃まで加温した。

13. 各バイアル瓶に、2mlの加温PBSを添加し、30秒間ボルテックス

し、上記したようにして全一バイアル瓶の内容物を1匹のブタに頸静脈内(i. j.)投与した。

実施例5：カルシトニンの腸管デリバリーを目的とする配合物

配合物を、以下のようにして調製した：

1) サケのカルシトニンとアコリン エムシーエム(Akoline MCM)との混合物

(a) リン脂質分散液を使用せず、(b) タンパク質含有凍結乾燥物を油相中に溶解せず、(c) 動物への投与前にタンパク質の凍結乾燥物を4 mlのリン酸緩衝生理食塩水に溶かし、および(d) 得られた溶液を2 mlの油相(アコリン エムシーエム/ツィーン80(Tween 80))に添加してボルテックスによって分散した以外は、実施例1と同様にした。

2) サケのカルシトニンとグリセロールジオレエート(glycerol di-oleate)との混合物

グリセロールジオレエート(glycerol di-oleate)をアコリン エムシーエムの代わりに使用した以外は、配合物(1)と同様にした。

3) サケのカルシトニンとオレイン酸との混合物

オレイン酸をアコリン エムシーエムの代わりに使用した以外は、配合物(1)と同様にした。

4) アコリン エムシーエムにおけるサケのカルシトニン/PC複合体を含む油

実施例1に記載されるのと同様にした。

5) アコリン エムシーエムにおけるサケのカルシトニン/ケノデオキシコール酸塩複合体を含む油

ケノデオキシコール酸ナトリウムを油相中で100 mg/gの濃度でPCの代わりに使用する以外は、上記実施例の配合物(4)における組成と同じ組成の配合物。

6) アコリン エムシーエムにおけるサケのカルシトニン/ケノデオキシコール酸塩複合体を含む油

アプロチニンを除き、およびケノデオキシコール酸ナトリウムを油相中で17.5 mg/gの濃度でPCの代わりに使用する以外は、上記実施例の配合物(4)

）における組成と同じ組成の配合物。

7) アコリン エムシーエムにおけるサケのカルシトニン／ウルソデオキシコール酸塩複合体を含む油

アプロチニンを除き、およびウルソデオキシコール酸ナトリウムを油相中で17.5mg/gの濃度でPCの代わりに使用する以外は、上記(4)における組成と同じ組成の配合物。

8) アコリン エムシーエムにおけるサケのカルシトニン／トコフェロ

ールスクシネート複合体を含む油

アプロチニンを除き、および $\alpha$ -トコフェロールスクシネート(alpha-tocopherol succinate)を油相中で25mg/gの濃度でPCの代わりに使用する以外は、上記(4)における組成と同じ組成の配合物。

9) アコリン エムシーエムにおけるサケのカルシトニン／ドキュセートナトリウム複合体を含む油

アプロチニンを除き、およびドキュセートナトリウムを油相中で25mg/gの濃度でPCの代わりに使用する以外は、上記(4)における組成と同じ組成の配合物。

#### 実施例6：インスリンの腸管デリバリーを目的とする配合物

配合物を、以下のようにして調製した：

10) インスリンとアコリン エムシーエム(Akoline MCM)との混合物 7.3mgのインスリン(200iu)、2mgのアプロチニン、及び1mlのアコリン／ツィーン80(Tween 80)油相を使用した以外は、配合物(1)と同様にした。

11) アコリン エムシーエムにおけるインスリン／PC複合体を含む油

実施例2に記載されるのと同様にした。

12) 高胆汁酸塩濃度でのアコリン エムシーエムにおけるインスリン／ケノデオキシコール酸塩複合体を含む油

実施例3に記載されるのと同様にした。

13) 中胆汁酸塩濃度でのアコリン エムシーエムにおけるインスリン／ケノデ



オキシコール酸塩複合体を含む油

実施例3に記載されるのと同様にした。

14) 低胆汁酸塩濃度でのアコリン エムシーエムにおけるインスリン/ケノデオキシコール酸塩複合体を含む油

実施例3に記載されるのと同様。

15) (アプロチニンを含む) アコリン エムシーエムにおけるインスリン/ウルソデオキシコール酸塩複合体を含む油

実施例4に記載されるのと同様にした。

16) (アプロチニンを含まない) アコリン エムシーエムにおけるインスリン/ウルソデオキシコール酸塩複合体を含む油

アプロチニンを調製物から除く以外は実施例4に記載されるのと同様にした。

17) リン酸緩衝生理食塩水におけるインスリン/ウルソデオキシコール酸塩の溶液

実施例4の段階(3)におけるのと同様にして調製されたインスリンの溶液を凍結乾燥した。投与前にリン酸緩衝生理食塩水に再溶解(7.3mg インスリン/2ml)した。

#### 実施例7：動物研究

##### 動物研究

##### 動物モデルの調製

カルシトニンの経口配合物を試験するのに使用された動物モデルは幼いブタである。ヒトと同様の体重を有し、さらに小腸の構造、機能及び大きさがヒトの小腸と似ているため、このブタが選ばれる。ヒトとブタの胃の相違に関連する関係の評価するために、動物を材料が留置カニューレを介して直接空腸に導入されるように外科的に操作した。また、これにより、腸内に一定量が届く時間としての経口投与が一般的に関連する不確かさが減少し、得られる統計学的な質が改善される。

一回目の投与の少なくとも10日前に、細いプラスチック製カニューレをブタの空腸中に外科的に挿入した後、試験材料が動物にストレスを与えずに空腸中に

注入できるようにブタの背の皮膚下から出した。やは

り背中の中から出した留置カテーテルを、繰り返し血液サンプルが得られるように中部伏在動脈を介して大動脈中に挿入した。第二のカテーテルもまた頸動脈に導入した。

#### 配合物の投与

ブタを、絶食状態にあることを十分意識しながら試験し、ペプチド配合物を、3基準血液サンプルを採取した後、経口ルートを介して投与した。1回の実験は、一般的に、8～9時間の期間を占め、外科的に調製されたブタは4週間にわたって週3回まで試験に参加させた。試験終了時に、ブタを殺し、腸について肉眼で及び顕微鏡で変化を試験した。

研究中、水は自由に摂取させ、ブタに8:00及び15:30に餌を与えた。15:30の餌やり後に残っている餌は16:30に除いた。処置日には、8:00の餌やりをやめ、1日の全必要量の3/4を最後の血液サンプルを採取した後に与えた。

処置日には、投与用溶液を空腸内への留置カニューレを介した薬液注入によって与えた。カニューレを、投与前に1mlの加温(25～30℃)滅菌リン酸緩衝生理食塩水でフラッシュし、さらに投与後に同温度の同材料5mlでフラッシュした。脂質デリバリーシステムに取り込まれるカルシトニン<sup>®</sup>は、2mlの油を4mlの加温リン酸緩衝生理食塩水中でボルテックスした分散液として投与され、得られた分散液1.3mlを各動物に投与した。各動物には5000iuのカルシトニンが投与された。インスリン配合物もまた、200iuのインスリンを含む1mlの油を加温リン酸緩衝生理食塩水2ml中で分散させ、その後に単一の動物に3mlすべてを頸静脈内に投与した分散液として投与した。

#### 動物におけるサンプル収集

血液の収集に用いたカテーテルは、ヘパリン化生理食塩水(500iu/ml)で毎日1回フラッシュされた。サンプリング日には、より低

濃度のヘパリン溶液(50iu/ml)がサンプリングの間にカテーテルに使用

された。

研究日の9:00に、5ml以下の血液サンプルを、2mlの血液を抜いてカテーテルから残っている抗凝固剤を除去した後、採取した。次に、カテーテルを50iu/mlのヘパリン溶液でフラッシュして、カニューレの凝固を防止した。さらに、動物に、処置スケジュールに従って投薬した。血液サンプリング及び投薬は、数多くの動物を同時に扱えるようにずらした。各時点で合計4mlの、血液サンプルを、9:00(0時間)のサンプルとして投薬してから0.25、0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、及び6.0時間後に採取した。

#### アッセイ方法

血液サンプルを以下のようにして取り扱った：

捨てた後、まず2mlをプラスチック製のヘパリン化容器に採取した。次に、このサンプルを、冷却遠心機で3000rpmで20分間遠心する前に、最長30分+4℃で貯蔵した。さらに、得られた血漿を分けて、2つの適当な容器に移して、コーン自動分析器(Kone autoanalyser)を用いて血漿中のカルシウムまたはグルコース濃度を比色アッセイをする前は、-20℃で冷凍した。1サンプルをアッセイし、他方は保持した。

#### 結果

下記表1及び2は、カルシウムまたはグルコースレベルの減少、さらにはカルシウムまたはグルコースレベルのピークの減少をAUCで表わした動物研究の結果を示すものである。

表1：実施例5に記載されるカルシトニン配合物に関する結果

配合物の詳細 一匹の動物当たり5000iuの投与量で投与されたカルシトニン	カルシウム減少のAUC (4時間)	カルシウムのピーク減少 mmol/L
1. PBSにおけるsCT/アプロチニン+アコリン/ツイン80混合物	-2.19±0.97	-0.74±0.31
2. PBSにおけるsCT/アプロチニン+GDO/ツイン80混合物	-0.6±0.39	-0.33±0.26
3. PBSにおけるsCT/アプロチニン+オレイン酸/ツイン80混合物	-0.5±0.39	-0.44±0.04
4. sCT/アプロチニン  PC  アコリン  ツイン80	-0.82±0.89	-0.39±0.10
5. sCT/アプロチニン  ケノ  アコリン  ツイン80	-1.85±1.48	-0.63±0.06
6. sCT/アプロチニン  ケノ  オレイン酸  ツイン80	-0.63±0.38	-0.24±0.18
7. sCT  ケノ  アコリン  ツイン80	-1.73±1.20	-0.60±0.36
8. sCT  ウルソ  アコリン  ツイン80	-2.26±1.31	-0.73±0.44
9. sCT  αTS  アコリン  ツイン80	-2.22±1.04	-0.73±0.32
10. sCT  ドキセート  アコリン  ツイン80	-1.55±0.83	-0.54±0.25

表2：実施例6に記載されるインスリン配合物に関する結果

配合物の詳細 200iu/動物の投与量で投与されたインスリン	グルコース減少のAUC (4時間)	グルコースのピーク減少 mmol/L
11. PBSにおけるインスリン/アプロチニン+アコリン/ツイン80混合物	-3.78±2.65	-2.34±1.79
12. インスリン/アプロチニン  アコリン  ツイン80	-2.84±2.97	-1.45±1.54
13. インスリン/アプロチニン  ケノ(高)  アコリン  ツイン80	-2.02±1.44	-1.94±1.17
14. インスリン/アプロチニン  ケノ(中)  アコリン  ツイン80	-2.93±1.58	-1.96±1.17
15. インスリン/アプロチニン  ケノ(低)  アコリン  ツイン80	-2.98±2.88	-2.18±1.68
16. インスリン/アプロチニン  ウルソ(低)  アコリン  ツイン80	-3.66±2.17	-1.85±1.29
17. インスリン単独  ウルソ(低)  アコリン  ツイン80	-5.69±2.32	-2.75±0.59
18. PBSにおけるインスリン/ウルソ	-2.09±1.23	-1.03±0.93
19. ネガティブコントロール(インスリンなし)	-1.58±1.03	N/A
11~18.	-1.69	-
17~18.	-3.60	-

表2中、中鎖モノグリセリドにおける疎水性溶液としての配合インスリン(17)は成分の簡単な2相混合物(11)より高い効能を与える。これは、ピークグルコース減少ではなく、グルコースの減少のAUCでより顕著であることから、より長い作用期間が効能の改善の重要な因子であることが示される。(11)及び(17)からグループ(18)のAUC値を引くことによって、遊離形態で投与されたインスリンの効果以上のデリバリー媒体によって作られる貢献が得られる。示されるように、中鎖モノグリセリドにおける溶液として配合されるインスリンは成分の単なる混合物によって付与される促進の2倍を超える促進を与えるものである。

【手続補正書】特許法第184条の8第1項

【提出日】平成10年9月9日(1998. 9. 9)

【補正内容】

請求の範囲

1. (i) 一以上の中鎖モノグリセリドを含む油相；  
(i i) 少なくとも一の両親媒性物質；および  
(i i i) 一以上のグリセリド中に可溶化されるまたは分散される親水性物質  
を含み、該親水性物質が一般的には前記一以上のグリセリド中に溶解しないものである疎水性調製物において、該調製物が遊離水分子を含まず、さらに該油相が40～90%のモノグリセリドを含むことを特徴とする、疎水性調製物。
2. 油相が中鎖のモノー及びジグリセリドの混合物からなる、請求の範囲第1項に記載の疎水性調製物。
3. 中鎖のグリセリドが8～10炭素原子の鎖長を有する、請求の範囲第2項に記載の疎水性調製物。
4. 油相がさらにオレイン酸、グリセロールモノオレエートまたはゲルサイア一等の追加の化合物を含む、請求の範囲第2項または第3項に記載の疎水性調製物。
5. 油相が60～70%のモノグリセリドを含む、請求の範囲第4項に記載の疎水性調製物。
6. 油相がアコリン エムシーエム(Akoline MCM)を含む、請求の範囲第1項から第5項のいずれか一項に記載の疎水性調製物。
7. 両親媒性物質：親水性物質の割合が重量比で1：1～20：1の範囲内である、請求の範囲第1項から第6項のいずれか一項に記載の疎水性調製物。
8. 両親媒性物質：親水性物質の割合が重量比で2：1～8：1の範囲内である、請求の範囲第7項に記載の疎水性調製物。
9. 両親媒性物質がホスファチジルコリン、ホスファチジン酸、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン若し

くはこれらのリゾ誘導体、オクチルグルコシド若しくは他の糖脂質、トコフェロールスクシネート及びコレステロールヘミスクシネート、ドキュセートナトリウムまたはヒドロキシプロピルセルロースである、請求の範囲第1項から第8項のいずれか一項に記載の疎水性調製物。

10. 両親媒性物質が胆汁酸塩である、請求の範囲第1項から第8項のいずれか一項に記載の疎水性調製物。

11. 両親媒性物質がコール酸塩、デオキシコール酸塩、ケノデオキシコール酸塩、ウルソデオキシコール酸塩、タウロコール酸塩、タウロデオキシコール酸塩、タウロウルソデオキシコール酸塩、タウロケノデオキシコール酸塩、グリココール酸塩、グリコデオキシコール酸塩、グリコウルソデオキシコール酸塩、グリコケノデオキシコール酸塩、リトコール酸塩、タウロリトコール酸塩またはグリコリトコール酸塩を含む胆汁酸塩である、請求の範囲第10項に記載の疎水性調製物。

12. 親水性物質が親水性高分子である、請求の範囲第1項から第11項のいずれか一項に記載の疎水性調製物。

13. 親水性高分子がタンパク質、糖タンパク質、オリゴおよび／またはポリ核酸、例えば、DNA若しくはRNA、およびこれらの類似体、ヘパリン等の多糖、またはこれらの超分子集合体を含む、請求の範囲第12項に記載の疎水性調製物。

14. 小分子が親水性高分子と同時に可溶化される、請求の範囲第12項または第13項に記載の疎水性調製物。

15. 小分子がシクロデキストリンなどの多糖またはビタミンB<sub>12</sub>である、請求の範囲第14項に記載の疎水性調製物。

16. 高分子がタンパク質である、請求の範囲第12項から第15項のいずれか一項に記載の疎水性調製物。

17. タンパク質がインスリン、カルシトニン、ヘモグロビン、大豆のトリプシンインヒビター、アプロチニン、GLP1、エリトロポエチン、ソマトトロピン、成長ホルモン、成長ホルモン放出因子、ガラニン、ウロキナーゼ、因子VII

Iや因子IX等の血液因子、組織プラスミノゲン活性化因子、スーパーオキシドジスムターゼ、カタラーゼ、ペルオキシダーゼ、インターフェロン、ソマトスタチン、ヒルジン、LHRHまたはこれらの類似体若しくは断片である、請求の範囲第16項に記載の疎水性調製物。

18. 親水性物質が有機小分子、無機小分子またはコロイド状物質である、請求の範囲第1項から第11項のいずれか一項に記載の疎水性調製物。

19. 親水性物質がグルコース、カルボキシフルオレシン、抗癌剤、ビタミン、塩化カルシウム、リン酸ナトリウムまたは金コロイド、パラジウム、白金若しくはロジウムなどのコロイド金属である、請求の範囲第18項に記載の疎水性調製物。

20. 抗酸化剤、金属キレート化剤、緩衝剤及び分散剤から選ばれる一以上のさらなる成分をさらに含む、請求の範囲第1項から第19項のいずれか一項に記載の疎水性調製物。

21. 請求の範囲第1項から第20項のいずれか一項に記載の疎水性調製物を含むエマルジョン調製物。

22. 請求の範囲第1項から第20項のいずれか一項に記載の疎水性調製物を含む薬剤配合物。

23. 親水性物質の経口デリバリーを目的とする薬剤の調製における請求の範囲第1項から第20項のいずれか一項に記載の疎水性調製物の使

用。



## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

international application No PCT/GB 97/01775		
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 6 A61K47/14 A61K47/06 A61K9/127 A61K9/107		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X, Y	EP 0 260 796 A (YAMANOUCHI PHARMA CO LTD ; MAEDA HIROSHI (JP); KURARAY CO (JP); KAY) 23 March 1988	1-4, 10, 13, 14, 17, 20, 23, 24
Y	see the whole document	11, 12, 18, 21, 22
Y	WO 96 17593 A (CORTECS LTD ; NEW ROGER RANDAL CHARLES (GB); KIRBY CHRISTOPHER JOHN) 13 June 1996 cited in the application see the whole document	1-4, 10, 13, 14, 17, 18, 20, 23, 24
Y	WO 96 17594 A (CORTECS LTD ; NEW ROGER RANDAL CHARLES (GB); KIRBY CHRISTOPHER JOHN) 13 June 1996 cited in the application see the whole document	1-4, 10, 13, 14, 17, 18, 20, 23, 24
- / -		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is considered with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"Z" document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search 27 October 1997		Date of mailing of the international search report 05. 11. 97
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 eponl, Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer Fischer, W

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Internatio. Application No  
 PCT/GB 97/01775

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 95 13795 A (CORTECS LTD ;NEW ROGER RANDAL CHARLES (GB); KIRBY CHRISTOPHER JOHN) 26 May 1995 cited in the application see the whole document ---	1-4,10, 13,14, 17,18, 20,23,24
Y	WO 94 08603 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP ;CONSTANTINIDES PANAYIOTIS PERI (US)) 28 April 1994  see the whole document ---	1-4,10, 13,14, 17,18, 20,23,24
Y	WO 93 02664 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP) 18 February 1993  see the whole document ---	1-4, 10-14, 17,18, 20-24
Y	WO 94 08605 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP ;CONSTANTINIDES PANAYIOTIS PERI (US)) 28 April 1994  see the whole document ---	1-4, 10-14, 17,18, 20-24
Y	WO 94 19003 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP ;CONSTANTINIDES PANAYIOTIS PERI (US)) 1 September 1994 see the whole document ---	1-4, 10-14, 20-24
A	WO 94 12154 A (CORTECS LTD ;NEW ROGER RANDAL CHARLES (GB)) 9 June 1994 -----	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/GB 97/01775

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0260796 A	23-03-88	CA 1283359 A	23-04-91
		JP 1085922 A	30-03-89
		JP 2556865 B	27-11-96
		US 5389366 A	14-02-95
WO 9617593 A	13-06-96	AU 4122496 A	26-06-96
		EP 0796085 A	24-09-97
		FI 972442 A	09-06-97
		NO 972608 A	08-08-97
WO 9617594 A	13-06-96	AU 4183496 A	26-06-96
		EP 0796086 A	24-09-97
		FI 972411 A	06-06-97
		NO 972607 A	07-08-97
WO 9513795 A	26-05-95	AU 8149694 A	06-06-95
		CA 2176577 A	26-05-95
		CN 1137751 A	11-12-96
		EP 0729350 A	04-09-96
		ZA 9409109 A	16-05-96
WO 9408603 A	28-04-94	EP 0671929 A	20-09-95
		JP 8502490 T	19-03-96
WO 9302664 A	18-02-93	AT 144137 T	15-11-96
		AU 667316 B	21-03-96
		AU 2411592 A	02-03-93
		CA 2114141 A	18-02-93
		DE 69214652 D	21-11-96
		DE 69214652 T	20-03-97
		EP 0597007 A	18-05-94
		ES 2093269 T	16-12-96
		JP 6509796 T	02-11-94
		MX 9204379 A	01-02-93
		NZ 243703 A	21-12-95
		ZA 9205581 A	14-05-93
WO 9408605 A	28-04-94	EP 0666752 A	16-08-95
		JP 8502492 T	19-03-96

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No  
PCT/GB 97/01775

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9419003 A	01-09-94	EP 0684834 A	06-12-95
		JP 8507078 T	30-07-96
-----			
WO 9412154 A	09-06-94	AU 5531494 A	22-06-94
-----			

## フロントページの続き

(51)Int. Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F.I	ターマコード (参考)
A 6 1 K	38/23	A 6 1 K	37/24
	38/24		37/36
	38/27		37/547
	38/28		37/14
	38/43		37/465
	38/48		37/64
	38/55		37/38
(81)指定国	EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, L U, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, KE, LS, MW, S D, SZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, F I, GB, GE, GH, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, M X, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW		
(72)発明者	カービー, クリストファー, ジョン イギリス国, パークシャイアー アールジ ー41 2ワイエル, ワーキングハム, オッ クスフォード ロード 95		